

ОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ ЛЕПТОМОНАД

Г. В. Ни

Узбекский научно-исследовательский институт медицинской паразитологии имени Л. М. Исаева, Самарканд

Было проведено сравнительное изучение действия температуры инкубирования на патогенные (*Leishmania tropica major*) и непатогенные штаммы лептомонад. Исследованы 114 штаммов (различного происхождения), заведомо проверенные нами методом биопробы, в том числе 76 патогенных и 38 непатогенных.

Повышение температуры инкубирования культур производилось скачкообразно с 22 до 37° после 10 дней роста на питательной среде NNN с добавлением 0.2% раствора пептона. Установлено четкое различие в поведении патогенных и непатогенных штаммов. У патогенных штаммов уже через 42 часа при температуре 37° наступала потеря подвижности, деформация особей, а через 48 час. наступал лизис. Непатогенные штаммы, находившиеся при тех же условиях, выживали в культурах до 7, а в отдельных случаях до 10 суток. Убыль числа полноценных особей происходила не столь резко как у патогенных, а постепенно.

Изучение возбудителя кожного лейшманиоза в природных очагах этой болезни связано с необходимостью выделения и четкого разграничения патогенных и непатогенных трипаносоматид в стадии лептомонад. Будучи выделенными от разных резервуаров и переносчиков, культивируемые на питательной среде, патогенные и непатогенные лептомонады морфологически неразличимы. Поэтому для выявления среди массы культур патогенных для млекопитающих форм необходимо прибегать к постановке биопроб на грызунах.

Для определения наличия патогенности — видового признака *Leishmania tropica major* — обычно заражают белых мышей, восприимчивых к этому возбудителю (Белова и Карапетян, 1963; Белова и Сафьянова, 1963; Шуйкина, 1964; Келлина, 1965; Parrot, 1929, и др.). Этот метод мы в свое время широко использовали при изучении 203 штаммов, выделенных на территории Узбекистана от разных источников (Шишляева-Матова, Ни и Звягинцева, 1966; Ни, 1968, 1968а).

Применение метода биопроб связано с большой затратой времени и средств. В отдельных случаях инкубационный период болезни — зоонозного кожного лейшманиоза — зараженных нами мышей затягивался до 200 и даже 400 дней. Если бы наблюдения не были достаточно длительными, результаты многих опытов были бы приняты за отрицательные, а штаммы, использованные в них, были бы отнесены к непатогенным.

Мы попытались найти другой метод, позволяющий гораздо проще и быстрее проводить разграничения патогенных и непатогенных видов. Для этой цели было проведено сравнительное изучение действия скачкообразного повышения температуры инкубирования на заведомо патогенные (*L. tropica major*) и заведомо непатогенные штаммы лептомонад.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опыты были взяты проверенные нами методом биопробы 114 штаммов лептомонад, в том числе 76 патогенных и 38 непатогенных (для белых мышей). Патогенные штаммы были получены от человека (42 штамма), от больших песчанок (9), от тушканчика Северцова (1), от трех видов москитов (14); кроме того, патогенными были 10 субштаммов (от переносчиков), подвергавшихся пассажам через организм белой мыши. Степень вирулентности указанных 76 штаммов была различной; возбудители, выделенные от человека, обладали высокой вирулентностью, почти такими же свойствами обладали штаммы от москитов *Phlebotomus papatasi*; средняя или низкая вирулентность была присуща штаммам, выделенным от *Ph. caucasicus*, а штаммам, выделенным от *Ph. andrejevi* и *Sergentomyia arpaklensis*, — только низкая вирулентность. Непатогенные штаммы происходили от *Ph. papatasi* (1 штамм), *S. arpaklensis* (34) и рептилий (3).

Повышение температуры инкубирования культур производилось скачкообразно — с 22 до 37° после 7—10 дней роста на питательной среде NNN с добавлением 0.2% раствора пептона, pH среды 7.2. При новом температурном режиме (37°) культуры регулярно просматривались под микроскопом (брались капли жидкой фазы среды). Это делалось для установления выживаемости культур, изучения их морфологических изменений и степени нарушения подвижности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В процессе наблюдения за культурами лептомонад, поставленными в новые температурные условия, было замечено четкое различие в поведении патогенных и непатогенных штаммов. У патогенных штаммов через 42 час. при температуре 37° наступала потеря подвижности, деформации особей, а еще через 6 час. — лизис. В результате при подсчете флаголлит через 2 суток от начала опыта морфологически неповрежденные особи не были обнаружены ни в одном случае (просматривались по 30 полей зрения).

Непатогенные штаммы (также находившиеся перед опытом при температуре 22° в течение 10 суток) выживали в культурах при скачкообразном повышении температуры до 37° в течение 7, а в отдельных случаях даже до 10 суток (см. таблицу). Повреждающее действие высокой температуры отражалось и на этих культурах, но оно проявлялось не столь резко, убыль числа полноценных особей происходила постепенно, и до 4-го дня наблюдения в препаратах еще встречались делящиеся формы. Массовому лизированию флаголлит предшествовало развитие полиморфизма особей, появление почти неподвижных (шаровидных, грушевидных) и вакуолизированных форм.

Устойчивость непатогенных штаммов к повышенной температуре не была связана с происхождением жгутиковых от какого-либо одного вида хозяев. «Термостабильные» штаммы были выделены от двух видов москитов — *Ph. papatasi* и *S. arpaklensis* и от рептилий.

Высокая чувствительность патогенных штаммов к скачкообразному повышению температуры тоже не была связана с каким-либо одним источником их выделения, так как они получены от человека, больших песчанок, тушканчика Северцова и от трех видов москитов (*Ph. papatasi*, *Ph. caucasicus*, *Ph. andrejevi*), а 10 штаммов подвергались пассажам через восприимчивых млекопитающих и стали субштаммами.

Чувствительность к повышению температуры инкубирования у патогенных форм (у штаммов лейшманий) не была связана и со степенью их патогенности, т. е. вирулентности по отношению к белым мышам.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали опыты, мы теперь располагаем новым надежным способом выявления патогенных для теплокровных форм среди трипаносоматид (выделяемых в очагах зоонозного кожного лейшманиоза на стадии лепто-

**Выживаемость патогенных и непатогенных штаммов (для белых мышей)
лептотомнад при скачкообразном повышении температуры инкубирования
(с 22 до 37°)**

Источники выделения	Число	Выживаемость лептотомнад при температуре 37° (в экз.) в поле зрения микроскопа в раздавленной капле жидкой фазы среды, по срокам наблюдения				
		до опыта	через 1—2 дня	через 4 дня	через 7 дней	через 10 дней
П а т о г е н н ы е ш т а м м ы						
Человек	42	13—45	0	0	0	0
Большая песчанка . .	9	12—31	0	0	0	0
Тушканчик Северцова	1	15—20	0	0	0	0
Субштаммы	10	18—27	0	0	0	0
	5	13—38	0	0	0	0
	1	40—50	0	0	0	0
	8	13—48	0	0	0	0
Н е п а т о г е н н ы е ш т а м м ы						
Рептилии	1	30—40	15—20	3—5	Ед. экз.	0
	34	34—53	19—20	10—20	3—4	Ед. экз.
	3	35—57	23—30	3—20	3—5	Ед. экз.

монад). Описанный здесь термостатный способ таких форм был проверен нами на 76 заведомо патогенных и 38 заведомо непатогенных штаммах и ни в одном случае не дал расхождения с результатами ранее выполненных биопроб на грызунах. Его мы рассматриваем как дополнительный критерий, помогающий быстро провести разграничение *L. tropica major* от других видов жгутиковых, полученных в природе, и тем самым сократить объем более сложных исследований и ускорить изучение эпидемиологической роли отдельных видов москитов-переносчиков и грызунов в очагах лейшманиозов.

Таким образом, общую дифференциацию генетически разнородных штаммов лептотомнад (массы неизвестных культур) можно осуществлять путем изучения их терморезистентности. Однако этот метод не исключает необходимость использования более сложных методик, таких как заражение восприимчивых животных или иммунологических.

Л и т е р а т у р а

- Белова Е. М. и Карапетьян А. Б. 1963. Экспериментальное изучение лептотомнадных культур, выделенных из москитов. Мед. паразитол., 3 : 305.
- Белова Е. М. и Сафьянова В. М. 1963. О методах изучения естественной зараженности москитов лептотомадами в очагах кожного лейшманиоза. Зоол. журн., 17 : 1729—1731.
- Келлина О. И. 1965. Изучение экспериментального кожного лейшманиоза у белых мышей. Мед. паразитол., 6 : 684.
- Ни Г. В. 1968. Материалы изучения узбекистанских штаммов *L. tropica major*, выделенных от естественно зараженных больших песчанок. Тр. Узб. н.-иссл. инст. эксперим. мед., паразитол. и гельминтол., 5 : 33—35.
- Ни Г. В. 1968а. К вопросу о зараженности норовых москитов возбудителем *L. tropica major* в природном очаге остро некротизирующегося кожного лейшманиоза в Сырдарьинской области УзССР. Тр. Узб. н.-иссл. инст. эксперим. мед., паразитол. и гельминтол., 5 : 63—66.
- Шуйкина Э. Е. 1964. Изучение штаммов *L. tropica major*, выделенных в очагах кожного лейшманиоза сельского типа от песчанок и сходных с ними культур жгутиконосцев, выделенных от москитов. Мед. паразитол., 6 : 654.
- Шишляева-Матова Э. С., Ни Г. В. и Звягинцева Т. В. 1966. Патогенность штаммов лептотомнад, выделенных от москитов в природных очагах зоонозного кожного лейшманиоза в Узбекистане. Мед. паразитол., 3 : 266—270.
- Parrot L. 1929. De la virulence des cultures des *L. tropica* pour souris blanche. C. R. Soc. Biol. (Paris), 100 : 238—239.

ON IDENTIFICATION OF LEPTOMONAD STRAINS

G. V. Ni

S U M M A R Y

114 strains of leptomonads of different origin were studied under conditions of spasmodic increase in temperature of cultivation medium from 22 to 37°. Of them 76 strains of *L. tropica major* were pathogenic and 38 non-pathogenic.

It was established that after 42—48 hours, at the temperature of 37° lysis of pathogenic strains took place. At 37° non-pathogenic strains stayed alive for 7 and sometimes for 10 days.

Resistance of non-pathogenic and unresistance of pathogenic strains of leptomonads to a raised temperature is not associated with the origin of Flagellata from same host species or with the degree of their pathogenicity.
